

First Hit

L13: Entry 1 of 2

File: JPAB

Jan 6, 1977

PUB-NO: JP352001099A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 52001099 A

TITLE: PROCESS FOR PREPARING A PERFUME FOR TABACCO BY CULTURING BASIDIOMYCETE S

PUBN-DATE: January 6, 1977

## INVENTOR-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

KISAKI, TAKURO

MIKAMI, YOICHI

SASAKI, TAKESHI

MAEDA, SUSUMU

## ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

JAPAN TOBACCO INC

APPL-NO: JP50075625

APPL-DATE: June 23, 1975

INT-CL (IPC): A24B 3/12; A61K 7/46; C11B 9/00

## ABSTRACT:

PURPOSE: A process for preparing a perfume for tobacco by inoculating and culturing specific Basidiomycetes, one of the kinds of microorganisms, with leaves and stems of plants, or extracts from edible fruits extracted with water.

COPYRIGHT: (C)1977,JPO&amp;Japio

食品公衆衛生法

## 特 許 願

昭和 50 年 6 月 23 日

特許庁長官 斉藤 安雄 殿

## 1. 発明の名称

担子菌培養によるたばこ用香味料の製造方法

## 2. 発明者

住所 神奈川県横浜市磯子区磯子 6-2

氏名 日本専売公社 中央研究所内  
木佐木 忠 郎

(外 3 名)

## 3. 特許出願人

住所 東京都港区赤坂坂町2番地の1

名称 (456) 日本専売公社  
代表者 総経 木村 秀 弘

## 4. 指定代理人

住所 東京都港区赤坂坂町2番地の1

(5044) 日本専売公社 企画開発課本部長

氏名 片岡 興 一

シハノ

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

担子菌培養によるたばこ用香味料の製造方法

## 2. 特許請求の範囲

ナス科、ナスノキ科、ツバキ科、カキ科、タウ  
科、ミカン科、タヌ科、ソノ科、ユリ科、キク科、  
ショウガ科およびイネ科から選ばれる植物の果実  
または食用果実の 搾り汁、水可溶性あるいはこ  
れらの混合物を製造した後これにラエチポルス  
属、アルミワリエス属、ベンチナス属、レビス  
タ属、トリコローマ属、ユーティナリウス属、ワ  
タタリウス属、アガリカス属、クエネロマイセス  
属およびドロエオフィルム属から選ばれる一種ま  
たは二種以上の担子菌の菌糸体を接種して培養す  
ることを特徴とするたばこ用香味料の製造方法。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明は微生物の一種である特定の担子菌を植物  
の果実または食用果実の水抽出物等に接種培養

① 日本国特許庁

## 公開特許公報

①特開昭 52 - 1099

③公開日 昭52.(1977) 1. 6

②特願昭 50-74624

②出願日 昭50.(1975) 6.23

審査請求 有 (全7頁)

庁内整理番号

6467 21  
2114 46

⑤日本分類

J8 A20  
J1 F0

⑥Int.Cl.

A24B 3/12  
A61K 7/46  
C11B 9/00

してたばこ用香味料を製造する方法に関する。

近年たばこの嗜好はニコチンとタール含量が少  
なく味の緩和を方向へと移りつつあるが、反面  
たばこの美味はこれらの成分含量と度比例して  
低下する傾向にあるので、たばこの香味を改善  
するための香味料の開発は極めて重要な課題とな  
ってきている。

従来、たばこ用香味料は3種類に区分され、そ  
の1種は第1香料と称され、主としてたばこ葉の  
調湿と軟化を計ると同時に喫味効果を賦与するた  
めのもの、糖類、グリセリン、果実シロップ、  
蜂蜜、糖蜜あるいは甘草エキスを挙げられ、  
他の1種は第2香料と称され、主としてたばこに  
香りを賦与するもので、ラニエニス、トルバ  
ルサム、ローズ油、アニス油、シナモン油など  
の香料物質が挙げられる。第3香料としてはこれ  
らの高価な天然香料に代わって合成香料も広く利  
用され原価の低減がはかられている。

一般にたばこの香味料は官能的な特性であって、  
これを明確に区分することは困難であるが、通常

特開第52--1099(2)

香、味、刺激などに大別して考えることができる。この中で上記の第1香料は主として味の向上に、また第2香料は香りの向上に関与するものであって、第3香料については天然香料、合成香料ともに極めて豊富な種類が提供されており、また調香によって複雑な香りも多く創り出され、化粧品、食品とともにたばこの分野においても調香技術は非常に発達している。しかし、たばこの煙の味付料としての第1香料については天然物、合成物ともにその種類が少ないため、現在たばこの味付料の開発が急がれている。また最近では人体に対する考慮などから人工合成物よりも天然物が好まれる傾向にあることから、本発明者等は天然の植物を原料として新たなたばこの味付料を開発することを目的として鋭意研究を重ねた結果、微生物の1種である担子菌を特定植物の新葉や食用果実の水抽出物等を基質として培養することによって、極めてすぐれたたばこの味付料が得られることを見出し、本発明をなすに至った。

従来微生物の発酵作用を利用したたばこの香料

の製造方法としては特公開40-273が見受けられるが、本公報記載の発明は不完全菌類に属する微生物を、養分ばこの原料品、調分ばこまたはこれらの抽出物に果汁を加えたのち発酵培養してたばこの香味成分を生産させる方法である。

また微生物による発酵作用は古くから食品加工に应用され、こうじかび、酵母、乳酸菌などが酒、味噌、しょう油、ヨーグルト、チーズなどの発酵に使用されている。しかし、従来公知の微生物による発酵にはすべて細菌酵母または不完全菌が用いられ、本発明のように担子菌を用いて発酵させる技術は未だ知られていない。

担子菌は分類学的にも不完全菌とは全く異なり、担子器(キノコのかさの部分)に担子胞子を形成し世代の交代を行ひのに対し、不完全菌はほとんどすべて子のう菌に属し、通常分生子を形成して無性的に世代の交代を行なう。

また担子菌の利用形態としては自然に発生した子実体(キノコ)または株だ木やみが削などに人工的に培養して得た子実体を食用に供することが

知られており、近年になって人工培養したシイタケの菌糸体の抽出物をシイタケエキスとして医薬品的に用いること、サルノコシカケの抽出物が制ガン作用を有することなどが知られている。しかし、これら既知の担子菌の利用は子実体と菌糸体とを含めた菌体そのものまたはその抽出物そのものの利用であって本発明のような利用形態は全く見当たらない。

本発明はナス科、クヌシ科、ツバキ科、カキ科、クワ科、ミカン科、タデ科、ソコ科、ユリ科、キタ科、ショウガ科およびイネ科から選ばれる植物の新葉または食用果実の搾り汁、水可溶性あるいはこれらの混合物を、殺菌した後これにラエティボル系、アルミラリエラ系、レンチナス系、レビス系、トリコロマー系、コーディナリウス系、ラクタリウス系、アガリカス系、タエネロマイセス系およびグロエオフィルム系から選ばれる1種または2種以上の担子菌の菌糸体を接種培養してたばこの用香料を製造する方法である。

本発明の香料製造に適する植物としては本発

明者等が種々検討を行なった結果次の科に属する植物の葉および食用果実が好ましいことが判った。

ナス科：タバコ、ジャガイモ、トマトなど

クヌシ科：グググイジュ、クヌシ、ニッケイ、タアノキなど

ツバキ科：ツバキ、ツバキ、サザンカ、モッコリ、ツバキなど

カキ科：カキ、コクタンなど

クワ科：イチジク、イスビラ、クワ、ホップなど

ミカン科：カラダナ、ミカン、レモン、サンショウ、カラスザンショウなど

タデ科：イタドリ、タデ、ミズヒキ、ソバ、スイバなど

ソコ科：ソコ、ヤマソコ、ヒメソコ、イブキソコ、コウソク、タチジャコウソク、ハッカなど

ユリ科：ノカンゾウ、アブカンゾウ、キスグサ、ギボウシなど

カキ科：アキノキリンソウ、カキ、ヨメナ、ミ

セギ、キタイセ、ヒマワリなど

ショウガ科：ショウガ、ミョウガ、ウコンなど

イネ科：イネ、オオムギ、トウモロコシ、ススキ、ケンタッキーブルーグラス、サモシ、ジュズダマ、ハトムギなど

食用果実：ミカン、リンゴ、スモモ、イチジク、イチゴ、アズキ、デーツなど

上記の原料のうちタヌノキ科とシソ科の植物は単独で用いると担子菌の発酵が進みにくい傾向がみられるので、他の原料に1割程度混合するか、単独で用いる場合は培養液より以下の薄い溶媒として発酵させた方がよい。

上記以外の植物としてたとえばアブラナ科のコマナ、ケシ科のタケニグサ、キンボウグサ科のキンボウグサ、マメ科のシロフメタケおよびアケビ科のムベなどについても実験を行なったが、これらの植物を原料とした場合はよい結果が得られなかった。

上記の植物原料に対する担子菌の培養は次のようにして行なう。まず上記の植物から採取した葉

特開第52-1098(3)

または茎を室内に1～2日間吊るして黄変させ、必要に応じて1～2倍量（重量比）の水を加えたのち、叩碎機ですりつぶしてスラリー状とし、これを綿布の袋に入れて圧搾するか、または遠心分離機で残渣と分離して搾汁または水可溶物を得る。植物原料としてタバコを用いる場合は製品タバコ製造用の刻または製造工種中で排出される屑タバコをそのまま原料とすることができる。また収穫した植物の葉茎を室内に吊るして黄変させる理由は生葉中の不溶性でん粉を糖に変えるなど植物自身の酵素作用により、水可溶性物を増やし、担子菌の発酵作用の前駆物質を増やすためである。

また別の方法としては上記の黄変葉葉茎を日干、風乾または加熱通風乾燥機に入れ50～80℃で乾燥して水分を除き水分含量3～12%にした後、重量比で7～20倍量のアルコールを加え、常温～50℃で1～5時間放置抽出した後、綿布の袋に入れ圧搾または遠心分離機で固形物を分離して、アルコール抽出液を得る。このアルコール抽出液を30～50℃減圧下でアルコールを回収し、エキスを得る。こ

のエキスを重量比で1.5～10倍量の水に溶かした後、エキスを0.5～2倍量のヘキサンを加えて振り水不溶性の脂質類などをヘキサン層に移してヘキサン層とともに除き、水可溶物を得ることができる。ここで使用するアルコールには低級アルコール特にメタノールが適している。またヘキサンを加えて水不溶性を除く理由はアルコール抽出液中の青くさみをヘキサン層に移すとともに担子菌の発酵作用を阻害する傾向が認められる水不溶性の脂質類を除くためである。

次に食用果実を原料とするときは、果実を適当な大きさに切り、綿布の袋に入れ圧搾して搾り汁を得るか、1～5倍量（重量比）の水を加えて30分～2時間煮沸したのちこれを圧搾または遠心分離して水可溶物を得る。

上記のうち植物の葉茎または食用果実の搾り汁あるいは水を加えて水可溶物を得る場合、固形物の分離を省略して発酵操作を行なった後、濾液とともに固形物を分離してもよい。また原料の混合は抽出前に行なってもよいし、抽出後に行なっ

てもよい。

ついで上記のようにして得られた植物または食用果実の搾り汁または水可溶物の1種または2種以上を適宜混合した溶液に、必要に応じて適当な栄養源を添加し、100～125℃で5～20分間加熱滅菌したのち前培養した担子菌の菌糸体を接種し、20～35℃で1～30日間静置または振盪培養して、香味成分を含む培養液を生成させる。

適当な栄養源としてはブドウ糖、蔗糖などの糖類、グルタミン酸ソーダなどのアミノ酸類、イーストエキス、コヘンステイアブリーカー、硝酸アンモニウム、硝酸カリ、硝酸ナトリウムなどが挙げられ、これらの中から適当なものを選んで使用する。

本発明で使用し得る担子菌としてはラエティギルム属、コーティナリウス属、ラタトリウス属、アガリカス属、クエネロマイセス属およびグロエオフィラム属などの属に属する担子菌が好適である。しかし、アステロホーワ属、シアプス属、フィロボレプス属、マイセナ属、パヌス属およびヤセコムファリナ属などに属する担子菌では好結果

が得られなかった。

次にこれらの属に属する担子菌の具体的な菌名を例示する。

#### 1) 好結果が得られた担子菌の菌名

ラエティボルヌス スルプレウス (*Laetiporus sulphureus*) IFO 8406, フルミツリエラ メレア (*Armillaria mellea*) IFO 8331, レンティナス エドダス (*Lentinus edodes*) IFO 8340, レンティナス レビダウス (*Lentinus lepideus*) IFO 8719, レピスタ ヌーダ (*Lepista nuda*) IFO 8326, レピスタ ベルソナータ (*Lepista peroneata*) IFO 7717, トリコローマ マツタケ (*Tricholoma matsutake*) IFO 6935, トリコローマ コブスツム (*Tricholoma robustum*) IFO 8332, コーティナリウス シンナモキウス (*Cortinarius cinnamomeus*) IFO 8376, ラクダリウス クリソヘウス (*Lactarius chrysorrheus*) IFO 8284, アガリクス ビスボルヌス (*Agaricus bisporus*) IFO 8383, アガリクス キャンペストリス (*Agaricus campestris*) IFO 8103, クニホロマイセス ナメコ (*Kyushuomyces nomenko*) IFO 7041, グロニオフィルム トブベウム (*Gloeophyllum trabe-*

*um*) IFO 6268,

#### 2) 好結果が得られなかった担子菌の菌名

アステロホーラ リコベルディダス (*Asterophora lycoperdoides*) IFO 8342, レアス スナルコレウス (*Oystus stercoreus*) IFO 9076, フィロボレツス マコアラリス (*Phlebotoma manipularis*) IFO 6897, マイセナ クロカーダ (*Mycena crocata*) IFO 9105, パヌス ルディア (*Panus rudis*) IFO 5516, キセロムファリナ コーティレナリス (*Xeromphalina exoticaoris*) IFO 7632,

なお、菌種名は伊藤誠哉著 日本菌類誌 (伊藤堂) によった。また菌種名の IFO は財団法人発酵研究所の略号であり、本研究所は日本微生物株保存機関連盟 (JFOO) に加盟している微生物保存機関である。

上記の担子菌以外にウロマイセス (*Uromyces*) 属、ブレニア (*Puccinia*) 属、ギムノスポランジウム (*Gymnosporangium*) 属、ステレオストレイタム (*Stereostroma*) 属、フラグミディウム (*Phragmidium*) 属、クロナンティウム (*Crocanthium*) 属およびメラランブソ

ラ (*Metamphora*) 属などに属する担子菌は人工培養ができないため本発明には不適であり、またティンティア (*Tilletia*) 属、エンティローマ (*Entyloma*) 属およびツブルレニア (*Tuberculinia*) 属に属する担子菌は強い悪臭を放つので本発明には不適である。さらにアマニダ ムスカリア (*Amanita muscaria*) などいわゆる毒キノコに属する菌も当然不適である。次に担子菌の菌培養は以下のようにして行なう。すなわち公知の適切な液体培地、たとえばマルトエキス培地 (マルトエキス 30g、炭糖 30g を水道水 1L と溶かしした培地) またはジャガイモ果汁培地 (ジャガイモ 200g を水道水 1L と煮崩しガーゼでろ過して得た果汁に炭糖 20g を加えた培地) に菌を接種し、25~30℃で5日間~3週間静置または振盪培養して菌糸体を生育させる。

担子菌による発酵作用は不完全固や膠凝などによる発酵作用に比べて緩慢であるため培養には比較的長期間好ましくは8~20日間を要する。この間に植物抽出液中に含まれている香味誘導物質は香味物質に変化され、同時に異臭臭が矯正され

又は抑制されてたばこになじんだ香味成分を含む培養液が生成される。

発酵終了後の培養液はガーゼ、絹布などでろ過するか、遠心分離して菌体を取り除いたのち、常圧または減圧で加熱濃縮してたばこ用香味料とする。濃縮の際、初留液を冷却縮減し濃縮終了後に濃縮液に加えると、揮発性の芳香物質を香味料に加えることができる。

本発明は次のような種々の利点効果を有する。すなわち第1に本発明によって得られた香味料はたばこ自体のもついや味あるいは副産物を抑制し、たばこらしい香りを増強する効果を有するとともに、特にたばこの味を著しく改善する点において、従来の微生物発酵では得られない顕著な効果を有している。

第2に本発明の香味料の製造原料としては天然に広く自生する植物や大量栽培に適した植物あるいは食用果実を使用するので原料が大量かつ安価に得られる利点を有する。

## 実施例 1

畑より採取したタバコ（品種メドール）の葉5  
kgを室内に2日間吊るして重宝させたのち叩解機  
ですりつぶしてスラリー状としたものをバスケッ  
ト型遠心分離機で残渣を分離し、搾り汁2.5Lを得  
た。この搾り汁を60℃減圧下で1Lに濃縮した後ブ  
ドウ糖20gを加えて、これを3Lの三角フラスコに  
入れ綿栓をして121℃15分間加熱滅菌した。つい  
で上記滅菌液搾り汁1Lに、マルトエキスを培地で  
前培養した担子菌レンティナス レビダウスの菌  
体20gを接種し32℃で2日間振盪培養したのち3  
日間静置培養した。この培養液をガーゼで濾過し  
て菌体を除いたのち減圧で加熱濃縮し、初留液20  
mlを加えた、400mlの香味料（底1とする）を得  
た。この香味料は肉桂臭の強い芳香を有していた。

## 実施例 2

栽培中のタバコ（品種M0）の葉心部（花葉を  
含む葉の上部）を切り取って、これを1日間乾燥  
重宝させたのち60℃で24時間通風乾燥し、ついで  
2~5mmの大きさに細刻した。この8kgをメタノ

特開 1992-1099(5)

ール15Lに浸漬し、50℃で2時間放置したのち、  
遠心分離機で残渣を分離した。得られたメタノー  
ル抽出液に、月桂樹の葉300gを全く同様の処理  
をして得たメタノール抽出液を混合し、40℃減圧  
下でメタノールを回収除去し、エキスを400gを得  
た。このエキスを水4Lとヘキサン500mlを加えて  
振盪した後ヘキサン層を除いた水溶液4Lを得た。  
この水溶液のうち2Lに炭酸40gを加えた後、3L  
の三角フラスコに入れ、ガラス管を通したゴム栓  
をしてオートクレーブに入れ121℃15分間加熱滅  
菌した。これにマルトエキスを培地で前培養したク  
エネロマイセス ナメコの菌体40gを接種し、  
30℃で5日間通気培養したのち、ガーゼで濾過し、  
伊達常圧下で加熱濃縮し、初留液20mlを加えて400  
mlの香味料（底2とする）を得た。この香味料は  
こりばしい肉桂臭と強いたばこらしい樹脂臭を  
有していた。

## 実施例 3

熟したイチゴの果実200gをつぶし、これに  
水200mlを加えて、30分間煮沸したのち綿布の袋

に入れ圧搾して得た搾り汁200mlを実施例2で得  
た残りの水溶液2Lに加えて、これを3Lの三  
角フラスコに入れ121℃で15分間滅菌した。これ  
にマルトエキスを培地で前培養したラエティガルス  
スフレウスの菌体40gを接種し、30℃で4  
日間通気培養した。この培養液をガーゼで濾過し、  
菌体を除いた後減圧濃縮して、初留液20mlを加え  
た400mlの香味料（底3とする）を得た。この香  
味料は肉桂臭を含みイチゴ臭とたばこ臭のまじ  
んだ芳香を有していた。

## 実施例 4

トウモロコシ（品種ゴールデンクロスベンナム）  
の生葉4kgとイヌビワの葉1kgを混合したものを  
原料粉とし、接種する菌をトリコローマ マツ  
メケとする以外は実施例2と全く同様にし操作し  
て200mlの香味料（底4とする）を得た。この香  
味料は淡肉桂臭とイチゴ臭を含む芳香を有して  
いた。

## 実施例 5

純花中のシロワガの地上部を刈取り、室内に3

日間吊るした後60℃で1日間通風乾燥し、1~5  
mmの大きさに細刻した。この500gを屑たばこ500  
gと混合したのち実施例2と同様にメタノール抽  
出とヘキサン分画を行なって水溶液2Lを得た。  
その1Lを3Lの三角フラスコに入れさらに炭  
酸40gを添加した後、121℃で15分間加熱滅菌  
した。これにマルトエキスを培地で前培養したトリ  
コローマ コブスタムの菌体20gを接種し、  
28℃で5日間振盪培養した。この培養液をガーゼ  
で濾過して菌を除いたのち煮沸濃縮して、初留  
液を15ml加えた、200mlの香味料（底5とする）を  
得た。この香味料はこりばしい肉桂臭を有してい  
た。

## 実施例 6

収穫直後のジャガイモ（品種男爵）の葉茎を3  
日間室内に吊るしたのち、60℃で1日間通風乾燥  
して葉のみをもぎとり、その500gと、全く同様  
にして得たヨモギの葉100gを混合したものを実  
施例2と同様にメタノール抽出とヘキサン分画を  
行い、水溶液1Lを得た。この水溶液にブドウ糖

20gとリン酸ナトリウム3gを加えて3L容量の三角フラスコに入れ100℃で30分間加熱滅菌した。これにジャガイモ煎汁培地で培養したレビスヌターダの菌体30gを接種し、28℃で4日間静置培養した。この培養液をろ紙でろ過して菌体を除いたのち58℃で減圧濃縮し、初留液15mlを加えて250mlの香味料(底6とする)を得た。この香味料はアニス様の芳香を有していた。

#### 実施例7

開花中のノカンゾウの茎葉(花を含む)を2日間室内に吊るしたのちビニールハウス内に閉を密けて暗し1週間日光に当て、自然乾燥したもの1gと厚たばこ1gと混合してこれを実施例2と同様にメタノール抽出とヘキサン分画を行い水溶液4Lを得た。この水溶液1Lにブドウ糖10g、グリセリン20gを加え3L容量の三角フラスコに入れ121℃で15分間加熱滅菌したのち、これにマルトエキス培地で前培養したアガリカスキャンベストリスの菌体30gを接種し、30℃で3日間振盪培養し5日間静置培養した。この培養液をろ紙

#### 実施例9

たばこ工場の廃刻巻上げ工程で排出された屑たばこ(水分13%)500gと黄変後通風乾燥したイタドリの新葉500gを混合したものを実施例2と同様の操作によりメタノール抽出とヘキサン分画を行なって水溶液2Lを得た。この2Lの水溶液に鹿糖蜜80gとリン酸カリ3gを加え3Lの三角フラスコ2本に1Lずつ分注し、121℃で10分間加熱滅菌を行なった。滅菌後の1本の三角フラスコ中の水溶液1Lにマルトエキス培地で28℃4週間培養を行なったコーティナリウス・センナモネウスの菌体10gを接種し、28℃で2日間振盪培養したのち3日間静置培養した。この培養液をガーゼでろ過して菌体を除き常圧で加熱濃縮し、初留液40mlを加えて、400mlの香味液(底9とする)を得た。この香味液は濃いたばこらしい香りと肉桂臭を併せた芳香を有していた。

#### 実施例10

前もってジャガイモ煎汁培地を用い、32℃で6日間振盪培養したラクタリウス・タリソヘウスの

付図 352~1099(6)

でろ過して菌体を除いたのち減圧濃縮し、初留液15mlを加えて、200mlの香味料(底7とする)を得た。この香味料はアニスと肉桂様の芳香を有していた。

#### 実施例8

厚たばこ(品種フライトエロー)をたばこ工場において常法により乾燥・製刻して得られた刻み1g(水分12%)と乾燥したフオジン100gを混合したものに水3Lを加え密栓で5時間放置したのちガーゼでろ過して水抽出液2.5Lを得た。この水抽出液1Lにブドウ糖30gを加え3L容量の三角フラスコに入れ、121℃で5分間加熱滅菌したのち、これにマルトエキス培地で28℃1週間静置培養しておいたアルミフリエラ・メレアの菌体10gを接種し28℃で7日間静置培養した。この培養液をガーゼでろ過して菌体を除いたのち常圧で加熱濃縮し、初留液30mlを加えて300mlの香味料(底8とする)を得た。この香味料はわずかに肉桂様の芳香を有していた。

菌体10gを実施例8で分取した別の滅菌済の三角フラスコ中の水溶液1Lに接種し、28℃で2日間振盪培養後3日間静置培養した。この培養液をガーゼでろ過して菌体を除いたのち常圧で加熱濃縮し、初留液40mlを加えて400mlの香味料(底10とする)を得た。この香味液は濃いたばこらしい香りと肉桂臭を持った芳香を有していた。

#### 実施例11

収穫後3日間室内に堆積したのち自然乾燥したカキおよびカラタチの葉をそれぞれ1gと300gを混合して1~3mmに細断し水3Lを加えて、180℃20分間加熱滅菌したのち前もって紙おろしをして160℃1時間乾燥滅菌をした40×30cmのロー引きバット3個に等分に分けて入れた。別にマルトエキス培地で前培養したグロエオフィルム・トバウムの菌体をワーリングブレンダーで細かくし、その10gずつを各バットに入れた滅菌済の紙片に接種し、紙おろしをして28℃で1週間培養した。これをバスケット式遠心分離機で菌体物を除き水溶液1.8Lを得た。この液を常圧加熱濃

20gとリン酸ナトリウム3gを加えて3L容量の三角フラスコに入れ100℃で30分間加熱滅菌した。これにジャガイモ煎汁培地で培養したレビスタマーダの菌体30gを接種し、28℃で4日間静置培養した。この培養液をろ紙でろ過して菌体を除いたのち55℃で減圧濃縮し、初留液16mlを加えて230mlの香味料(原6とする)を得た。この香味液はアニス様の芳香を有していた。

#### 実施例7

開花中のノカシソウの茎葉(花を含む)を2日間室内に吊るしたのちビニールハウス内に閉をあげて吊るし1週間日光に当て、自然乾燥したもの1kgと腐たばこ1kgと混合してこれを実施例2と同様にメタノール抽出とヘキサン分画を行い水溶液4Lを得た。この水溶液1Lにブドウ糖10g、グリセリン20gを加え3L容量の三角フラスコに入れ121℃で15分間加熱滅菌したのち、これにマルトエキスを培地で前培養したアガリカスキャンベストリスの菌体30gを接種し、30℃で8日間振盪培養し5日間静置培養した。この培養液をろ紙

#### 実施例9

たばこ工場の高圧釜上げ工程で排出された腐たばこ(水分13%)500gと夏夏後通風乾燥したイタドリの実500gを混合したものを実施例2と同様の操作によりメタノール抽出とヘキサン分画を行なって水溶液2Lを得た。この2Lの水溶液に脱脂蜜80gとリン酸カリ3gを加え3Lの三角フラスコ2本に1Lずつ分注し、121℃で10分間加熱滅菌を行なった。滅菌後の1本の三角フラスコ中の水溶液1Lにマルトエキスを培地で28℃4週間前培養を行なったコーティナリウス・レンナモネウスの菌体10gを接種し、28℃で2日間振盪培養したのち3日間静置培養した。この培養液をガーゼでろ過して菌体を除き常圧で加熱濃縮し、初留液40mlを加えて、400mlの香味液(原9とする)を得た。この香味液は強いたばこらしい香りと肉桂臭を帯びた芳香を有していた。

#### 実施例10

腐もってジャガイモ煎汁培地を用い、32℃で6日間振盪培養したラクタリウス・クリソヘウムの

付属552-1099の

でろ過して菌体を除いたのち煮沸濃縮し、初留液15mlを加えて、200mlの香味料(原7とする)を得た。この香味料はアニスと肉桂様の芳香を有していた。

#### 実施例8

栗たばこ(品種ブライトエロー)をたばこ工場において常法により乾燥殺菌して得られた刻み1号(水分12%)と乾燥したアオジソ100gを混合したものに水3Lを加え室温で5時間放置したのちガーゼでろ過して水抽出液2.5Lを得た。この水抽出液1Lにブドウ糖20gを加え3L容量の三角フラスコに入れ、121℃で5分間加熱滅菌したのち、これにマルトエキスを培地で28℃1週間静置培養しておいたアルミフリエワ・メレアの菌体10gを接種し28℃で7日間静置培養した。この培養液をガーゼでろ過して菌体を除いたのち常圧で加熱濃縮し、初留液20mlを加えて300mlの香味料(原8とする)を得た。この香味料はわずかに肉桂様の芳香を有していた。

腐菌体10gを実施例9で分取した別の滅菌液の三角フラスコ中の水溶液1Lに接種し、28℃で2日間振盪培養後3日間静置培養した。この培養液をガーゼでろ過して菌体を除いたのち常圧で加熱濃縮し、初留液40mlを加えて400mlの香味料(原10とする)を得た。この香味液は強いたばこらしい香りと肉桂臭を帯びた芳香を有していた。

#### 実施例11

収穫後3日間室内に堆積したのち自然乾燥したカキおよびカラダチの葉をそれぞれ1kgと300gを混合して1-3mmに細断し水3Lを加えて、120℃20分間加熱滅菌したのち前もって紙おむしをし、160℃1時間乾燥滅菌をした40×30cmのローリー紙をバット8個に等分に分けて入れた。別にマルトエキスを培地で前培養したドロエオフィルム・トラベウムの菌体をワーリングブレンダーで細かくし、その10gずつを各バットに入れた滅菌培養の細片に接種し、紙おむしをして28℃で1週間培養した。これをバスケット式遠心分離機で菌体物を除き水溶液1.8Lを得た。この液を常圧加熱濃



特開2002-1099(7)

第 1 表

| 区 分  | 散布濃度 | 味    | 香 り  | 刺激   |
|------|------|------|------|------|
| 無散布  | 0 %  | 0    | 0    | 0    |
| 点 1  | 0.5  | +2   | +2   | +2   |
| 点 2  | 0.5  | +2   | +1.5 | +1   |
| 点 3  | 0.5  | +2   | +2   | +2   |
| 点 4  | 0.5  | +1.5 | 0    | +0.5 |
| 点 5  | 0.5  | +1.5 | +0.5 | +0.5 |
| 点 6  | 0.5  | +1   | +1   | +1.5 |
| 点 7  | 1.0  | +2   | +2   | +0.5 |
| 点 8  | 1.0  | +2   | +1.5 | +1   |
| 点 9  | 1.0  | +2   | +1   | +1   |
| 点 10 | 1.0  | +2   | +1.5 | +1   |
| 点 11 | 0.5  | +1   | +1   | +1.5 |

縮をし、初留液 30ml を加えたたばこ香味料（点 11 とする）800 ml を得た。これはカンキツ様臭と同様臭を含む芳香を有していた。

## 試験例

実施例 1～11 で得られた香味料の喫味効果を調べるため、たばこ品種 40 の中 2 等の葉に刻し、上記の香味料をファインスプレーを用いて噴霧散布したのち常法により紙巻きし、3 名の官能検査パネルにより試験した結果は第 1 表の通りである。本発明の香味料を添加したものは、味、香り、刺激のいずれの要素についても改善されるが、特に味について顕著な改良効果を得、たばこの味付料として極めてすぐれていることがわかった。

注 1) 散布濃度はたばこ葉に対する添加香味料の重量の重量比を示す。

2) 表中の数値は次の評価を表わしパネルの平均値を示す。

- 0 ……無散布と変わらない  
+0.5 ……無散布よりわずかによい  
+1 ……無散布よりよい  
+1.5 ……無散布よりかなりよい  
+2 ……無散布より非常によい

## 五 添付書類の目録

|               |   |   |
|---------------|---|---|
| (1) 明 細 書     | 1 | 巻 |
| (2) 明 細 書 副 本 | 2 | 冊 |
| (3) 特 許 証 書   | 1 | 冊 |
| (4) 出願書類請求書   | 1 | 冊 |

## 六 特許以外の発明者

神奈川県横浜市緑区緑が丘 6-2

日本煙草株式会社研究開発部

三 上 洋 行

同上  
 三 上 洋 行

同上  
 三 上 洋 行